**Iranian Journal of Field Crops Research**
Homepage: https://jcesc.um.ac.ir

**Research Article**
**Vol. 22, No. 3, Fall 2024, p. 277-290**

# Investigating the Effect of Different Levels of Irrigation and Humic Acid Foliar Application on the Physiological Characteristics and Indigo of *Indigofera tinctoria* L.

**A. Ganjali[1], A. Sirousmehr[2*], A. Ghanbari[3], A. Alitavakoli[4]**

1- MSc. student of Agrotechnology, Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, University of Zabol, Zabol, Iran
2- Associate Professor, Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, University of Zabol, Zabol, Iran
3- Professor, Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, University of Zabol, Zabol, Iran
4- Masters, Southern Kerman Agricultural Jihad Organization, Jiroft, Iran
(*- Corresponding Author Email: asirousmehr@uoz.ac.ir)

| Received: 09 December 2023<br>Revised: 10 May 2024<br>Accepted: 13 May 2024<br>Available Online: 31 July 2024 | **How to cite this article:**<br>Ganjali, A., Sirousmehr, A., Ghanbari, A., & Alitavakoli, A. (2024). Investigating the Effect of Different Levels of Irrigation and Humic Acid Foliar Application on the Physiological Characteristics and Indigo of *Indigofera tinctoria* L. *Iranian Journal of Field Crops Research*, *22*(3), 277-290. (in Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/jcesc.2024.85800.1282 |
|---|---|

## Introduction

Indigo (*Indigofera tinctoria* L.) is a flowering plant belonging to the Fabaceae family. This plant has a high ability to grow again after harvesting, and the low sensitivity of this plant to the attack of pests and diseases in hot weather conditions is one of the reasons for increasing the yield of this plant. Global climate changes have led to changes in rainfall patterns and it is predicted that periods of insufficient rainfall will lead to drought with a gradual decrease in water available to the soil of plants, causing an impact on the growth and development or early death of the plant. The unreasonable long-term use of chemical inputs, including fertilizers and pesticides, has increased environmental pollution and in some cases has had a negative impact on the yield and quality of agricultural products. One solution is to use the principles of sustainable agriculture, especially the use of organic inputs in agricultural ecosystems. Humic acid (HA) is an organic biostimulant that significantly affects plant growth and increases crop yield. The purpose of the experiment is to investigate the effect of irrigation intervals and foliar spraying of humic acid on the physiological characteristics and indigo content of *Indigofera tinctoria*.

## Materials and Methods

This research was carried out as split plot layout based on randomized complete block design with three replications during 2019 in the agricultural research institute of Zabol Research Institute in Zahak city of Sistan and Baluchistan province in Iran. The experimental treatments were irrigation intervals of 7, 9 and 11 days as the main factor and five levels of humic acid foliar application as the sub-plot (no foliar application, foliar application with a concentration of 20, 30, 40 and 50 liters per hectare). Irrigation treatments were carried out two months after the planting date. Humic acid foliar application was started after three months from the date of planting in the flowering stage, every 15 days. The foliar spraying was done at the end of the day and at sunset with a back pump sprayer and with the same pressure on the bushes. In order to calculate the leaf yield by removing the marginal effect, the crop was harvested in the last week of November 2019 and kept in the warehouse at room temperature for 23 days. Then the dry leaves were separated and the weight of the leaves was



https://doi.org/10.22067/jcesc.2024.85800.1282

obtained in each plot and its yield was calculated in terms of tons per hectare. Wilson's method was used to prepare ash and extract to measure the concentration of iron, zinc, phosphorus and potassium elements. The amount of photosynthetic pigments was calculated by Arnon's method. To measure guaiacol peroxidase enzyme by Fielding and Hall method, calculate ascorbate peroxidase by Yashimura method, catalase enzyme by Beers and Caesar method, proline amount in leaves was measured by Bates method. Also, the indigo content was measured based on the method provided by Stoker *et al*. (1998) and Sales *et al*. (2006).

## Results and Discussion

The results of analysis of variance showed that the effect of different levels of irrigation on chlorophyll a, catalase, iron and zinc was significant. The effect of different levels of humic acid foliar application on chlorophyll a and b, carotenoid, ascorbate peroxidase, catalase, guaiacol peroxidase, iron, zinc, potassium, phosphorus and indigo content was significant. Also, the results of the analysis of variance showed that the interaction effect of irrigation in foliar application of carotenoid humic acid, ascorbate peroxidase, catalase, guaiacol peroxidase, iron, phosphorus and indigo content was significant. The highest (39.32 $mg.g^{-1}$ fresh weight) and the lowest (24.49 $mg.g^{-1}$ fresh weight) content of indigo were obtained at the 7-day irrigation interval under the conditions of foliar spraying of 50 liters per hectare and the 11-day irrigation interval under the conditions of no humic acid application

## Conclusion

The results of investigating the effect of reducing different levels of irrigation and increasing humic acid foliar spraying on indigo showed that the amount of chlorophyll a and b and zinc increased. Also, the increase in humic acid caused an increase in potassium and blood. At each level of irrigation, it was found that the amount of carotenoid and indigo content increased with the increase of humic acid foliar application. Some other physiological characteristics of indigo such as proline, ascorbate peroxidase, catalase and guaiacol peroxidase showed a decrease in each irrigation level with increasing humic acid foliar application. In future researches, it is possible to consider the comparison of soil application and foliar application of humic acid. In general, for the production of vesme leaves, 9-day irrigation interval in foliar application of 40 L $ha^{-1}$ of humic acid is suitable; and In order to obtain more indigo content, an 11-day irrigation interval in foliar application of 40 L $ha^{-1}$ of humic acid seems appropriate.

**Keywords:** Drought stress, Medicinal plant, Mineral elements, Organic fertilizer, Pigment

نشریه پژوهشهای زراعی ایران
Homepage: https://jcesc.um.ac.ir

مقاله پژوهشی
جلد ۲۲، شماره ۳، پاییز ۱۴۰۳، ص ۲۹۰-۲۷۷

# بررسی اثر تنش سطوح مختلف آبیاری و محلول‌پاشی اسید هیومیک بر خصوصیات فیزیولوژیک و ایندیگوی وسمه (*Indigofera tinctoria* L.)

عاطفه گنجعلی[۱]، علیرضا سیروس‌مهر[۲*]، احمد قنبری[۳]، علی علی‌توکلی[۴]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۹/۱۸
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۲/۲۴

## چکیده

به‌منظور بررسی تأثیر سطوح مختلف آبیاری و محلول‌پاشی اسید هیومیک بر خصوصیات فیزیولوژیک گیاه وسمه، آزمایشی در سال زراعی ۱۳۹۹-۱۳۹۸ در پژوهشکده کشاورزی زابل در شهرستان زهک اجرا شد. در این آزمایش دور آبیاری به‌عنوان کرت اصلی در سه سطح (۷، ۹ و ۱۱ روز) و محلول‌پاشی اسید هیومیک به‌عنوان کرت فرعی در ۵ سطح (شاهد، ۲۰، ۳۰، ۴۰ و ۵۰ لیتر در هکتار) در نظر گرفته شدند. نتایج نشان داد اثر سطوح آبیاری بر کلروفیل a، روی و عملکرد برگ معنی‌دار بود. اثر سطوح اسید هیومیک بر کلروفیل a و b، روی، پتاسیم و عملکرد برگ وسمه معنی‌دار بود. اثر متقابل آبیاری در اسید هیومیک بر کاروتنوئید، پرولین، آسکوربات پراکسیداز، گایاکول پراکسیداز، کاتالاز، آهن، فسفر و محتوی ایندیگو معنی‌دار شد. بیشترین (۳۹/۳۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و کمترین (۲۴/۴۹ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) میزان محتوی ایندیگو به‌ترتیب در دور آبیاری ۷ روز در شرایط محلول‌پاشی ۵۰ لیتر در هکتار و دور آبیاری ۱۱ روز در شرایط عدم کاربرد اسید هیومیک به‌دست آمد. کمترین میزان کلروفیل a (۰/۳۹۵۴ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و b (۰/۲۰۹۸ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در تیمار عدم محلول‌پاشی اسید هیومیک و بیشترین میزان کلروفیل a (۰/۶۷۴۱ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و b (۰/۳۷۴۰ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در تیمار محلول‌پاشی ۵۰ لیتر در هکتار مشاهده شد. بیشترین مقدار آسکوربات پراکسیداز با دور آبیاری ۹ روز و ۱۱ روز (به‌ترتیب ۰/۷۱۱۱ میلی‌گرم بر گرم و ۰/۷۷۸۶ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در تیمار عدم محلول‌پاشی اسید هیومیک و کمترین مقدار این صفت (به‌ترتیب ۰/۶۰۷۶ میلی‌گرم بر گرم و ۰/۶۰۱۸ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در تیمار محلول‌پاشی ۵۰ لیتر در هکتار به‌دست آمد. بیشترین مقدار عنصر فسفر (۲/۰۲۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن تر) با دور آبیاری ۱۱ روز در شرایط محلول‌پاشی ۳۰ لیتر در هکتار به‌دست آمد و کمترین مقدار عنصر فسفر (۱/۲۵۹ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن تر) با دور آبیاری ۷ روز در شرایط محلول‌پاشی ۳۰ لیتر در هکتار اسید هیومیک به‌دست آمد. در مجموع، جهت تولید برگ وسمه دور آبیاری ۹ روز در شرایط محلول‌پاشی ۴۰ لیتر در هکتار اسید هیومیک و برای به‌دست آوردن محتوی ایندیگوی بیشتر دور آبیاری ۱۱ روز و ۴۰ لیتر در هکتار اسید هیومیک مناسب به نظر می‌رسد.

**واژه‌های کلیدی:** تنش خشکی، رنگدانه، عناصر معدنی، کود آلی، گیاه دارویی

## مقدمه

وسمه (*Indigofera tinctoria* L.) از گیاهان گل‌دار متعلق به خانواده بقولات[۵] می‌باشد (Gao & Schrire, 2017). وسمه دارای منشأ ناشناخته است. این گیاه در سراسر مناطق گرمسیری پراکنده است و قرن‌ها به‌عنوان منبع اصلی رنگ نیل کشت شده و از ارزش بالایی برخوردار بوده است (Lemmens & Wulijarni-Soetjipto, 1991). وسمه درختچه‌ای راست به ارتفاع ۱/۵ متر، برگ‌های مرکب آن به طول ۲/۵ تا ۷/۵ سانتی‌متر و برگچه‌ها به تعداد ۹ تا ۱۳ عدد به‌صورت متقابل و رنگ برگ‌ها سبز متمایل به خاکستری و گل‌های آن به رنگ صورتی به طول ۴ میلی‌متر می‌باشد (Acevedo-Rodríguez, 1996; Ayeen & Shabani, 2005). ایندیگو

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد اگروتکنولوژی، گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران
۲- دانشیار، گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران
۳- استاد، گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران
۴- کارشناس ارشد، سازمان جهاد کشاورزی جنوب کرمان، جیرفت، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: asirousmehr@uoz.ac.ir)
https://doi.org/10.22067/jcesc.2024.85800.1282

5- Fabaceae

رنگدانه‌ای است آبی رنگ که از برگ گیاهان به‌دست می‌آید ولی بیشترین محتوای ایندیگو از برگ وسمه استخراج می‌شود (Balfour-Paul, 1998; Gilbert *et al*., 2004). این گیاه توانایی بالایی در رشد مجدد پس از برداشت داشته و مقاومت نسبتاً بالای این گیاه نسبت به آفات و بیماری‌ها در شرایط آب و هوایی گرم از جمله دلایل افزایش عملکرد این گیاه است (Sales *et al*., 2006).

وسمه گیاهی مؤثر در درمان یبوست، بیماری‌های کبد، تپش قلب و نقرس است. مصرف برگ‌ها و ریشه وسمه در درمان صرع و دیابت توصیه شده است (Nadkarni, 1998; Savithramma & Rao, 2007). برگ‌های آن برای تقویت رشد مو، دفع سمیت کبدی و ضدالتهاب توصیه شده است (Tyagi *et al*., 2010; Muthulingam, Mohandoss, Indra, & Sethupathy, 2010). عصاره متانولیک اندام‌های این گیاه از رشد ویروس ایدز جلوگیری می‌نماید (Kavimani *et al*., 2000).

تغییرات اقلیمی جهانی منجر به تغییر در الگوهای بارندگی شده و پیش‌بینی می‌شود دوره‌های بارندگی ناکافی منجر به خشکسالی با کاهش تدریجی آب در دسترس شده که منتج به رشد و نمو یا مرگ زودرس گیاه می‌شود (Bhargava & Sawant, 2013). همچنین اثرات خشکسالی در کشاورزی به دلیل کاهش منابع آب از یک‌سو و افزایش تقاضای غذا به علت رشد سریع جمعیت جهان از سوی دیگر به شدت نگران‌کننده شده است (O'Connell, 2017)، چراکه ممکن است بحران جهانی کمبود آب در آینده‌ای نزدیک شروع شود. عرضه محدود آب باعث کاهش رشد با جدا کردن برگ‌ها می‌شود و درنتیجه تجمع کمتر فتوسنتات‌ها که در نهایت باعث کاهش عملکرد می‌شود (Zhang, Lei, Lai, Zhao, & Song, 2018). کمبود آب در مراحل رویشی و زایشی عملکرد دانه را به‌ترتیب تا ۲۵ درصد و ۵۰ درصد کاهش می‌دهد (Mi *et al*., 2018). در گزارشی با اعمال تنش خشکی در کنار استفاده از ۵۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار، وزن خشک برگ وسمه به میزان ۵/۱۲ کیلوگرم در هکتار افزایش یافت (Sarhadi, Afsharmanesh, & Mokhtari, 2014). در آزمایشی مشابه بیشترین عملکرد اندام هوایی و وزن خشک برگ وساقه وسمه در سطح ۱۰۰ درصد آبیاری بر اساس ظرفیت زراعی آن به‌دست آمد (Modafe Behzadi, Rezvani Moghaddam, & Jahan, 2018). در این گزارش در محتوی ایندیگو کارامین با اعمال تنش خشکی تفاوتی چندانی به‌وجود نیامد؛ در مقابل بیشترین عملکرد ایندیگو کارامین در سطح ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی حاصل شد (Modafe Behzad *et al*., 2018).

در دهه‌های اخیر، کاربرد بلندمدت غیرمعقول نهاده‌های شیمیایی، از جمله کودها، آفت‌کش‌ها و علف‌کش‌ها، آلودگی محیطزیست را افزایش داده است (Kumar *et al*., 2019; Battaglia, Ketterings, Godwin, & Czymmek, 2021) و در برخی موارد بر عملکرد و کیفیت محصولات کشاورزی تأثیر منفی گذاشته است (Gomiero, Pimentel, & Paoletti, 2011). یکی از راهکارهای رفع این مشکل، استفاده از اصول کشاورزی پایدار به‌ویژه مصرف نهاده‌های آلی در بوم‌نظام‌های زراعی می‌باشد (Modafe Behzadi *et al*., 2018). اسید هیومیک (HA)[1] یک محرک زیستی آلی است که به‌طور قابل‌توجهی روی رشد و نمو گیاه تأثیر گذاشته و عملکرد محصول را افزایش می‌دهد (Rajpar, Bhatti, Zia-ul-Hassan, & Tunio, 2011). ترکیبات هیومیک با افزایش فعالیت میکروبی، جذب مواد مغذی و نفوذپذیری خاک موجب تحریک در رشد گیاه می‌شوند (Liu, Wang, Wang, & Xie, 2019). علاوه بر این، اسید هیومیک می‌تواند کارایی فتوسنتزی گیاهان را با تنظیم فعالیت‌های متابولیکی، هورمونی، بیوشیمیایی، مولکولی و فیزیولوژیکی مختلف بهبود بخشد (Shah *et al*., 2018). اسید هیومیک با کاهش تجمع بیش از حد گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) و محتویات مالون دی‌آلدئید (MDA) تحمل تنش را در گیاهان بهبود داده و درنتیجه نفوذپذیری غشای پلاسمایی را کاهش می‌دهد (García *et al*., 2012; Muscolo, Sidari, & Nardi, 2013). هدف از انجام آزمایش بررسی تأثیر دور آبیاری و محلول‌پاشی اسید هیومیک و اثر متقابل آن‌ها بر خصوصیات فیزیولوژیک و ایندیگوی وسمه می‌باشد.

## مواد و روش‌ها

این پژوهش طی سال زراعی ۱۳۹۹-۱۳۹۸ در پژوهشکده کشاورزی پژوهشگاه زابل در شهرستان زهک با عرض جغرافیایی ۳۰ درجه و ۵۰ دقیقه شمالی و طول جغرافیایی ۶۱ درجه و ۴۳ دقیقه شرقی و ارتفاع ۴۹۸ متر از سطح دریا به‌صورت اسپلیت‌پلات در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار اجرا شد. اقلیم منطقه گرم و خشک و دارای فصل خشک تابستانه می‌باشد. در طی زمان اجرا، متوسط دما ۳۷ درجه سانتی‌گراد، مجموع بارندگی در طی دوره رشد ۳۱/۴۷ میلی‌متر و متوسط رطوبت نسبی ۲۲/۲۹ درصد بود. تیمارهای آزمایش دورهای آبیاری ۷، ۹ و ۱۱ روز به‌عنوان کرت اصلی و سطوح مختلف محلول‌پاشی اسید هیومیک به‌عنوان کرت فرعی در پنج سطح شاهد (عدم محلول‌پاشی)، محلول‌پاشی با غلظت ۲۰، ۳۰، ۴۰ و ۵۰ لیتر در هکتار انتخاب شدند.

قبل از شروع آزمایش به‌منظور بررسی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک محل آزمایش، نمونه خاک از عمق ۳۰-۰ سانتی‌متری تهیه و جهت تجزیه به آزمایشگاه دانشکده کشاورزی دانشگاه زابل منتقل گردید. نتایج آزمون خاک در جدول ۱ نشان داده شده است.

1- Humic Acid (HA)

جدول ۱- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک

Table 1- Physical and chemical properties of soil

| K (PPM) | Na (PPM) | Mg (PPM) | Ca (PPM) | EC (dS.m$^{-1}$) | pH |
|---|---|---|---|---|---|
| 13.5 | 31.5 | 1585.08 | 2124.24 | 5.21 | 7.09 |
| درصد نیتروژن کل<br>Total nitrogen (%) | درصد ماده آلی<br>Organic matter (%) | درصد کربن آلی<br>Organic carbon (%) | Zn (PPM) | Fe (PPM) | P (PPM) |
| 0.11 | 2.12 | 1.23 | 18.63 | 0.46 | 1.61 |

زمین محل آزمایش در فروردین ماه ۱۳۹۹ در عمق ۳۰ سانتی‌متر شخم و سپس دیسک و بعد با استفاده از دستگاه لولر تسطیح و سپس توسط فاروئر جوی و پشته ایجاد شد. کاشت به‌صورت خطی در تاریخ ۲۹ فروردین سال ۱۳۹۹ صورت گرفت. فصل رشد از تاریخ کاشت (۱۳۹۹/۰۱/۲۹) تا هفته پایانی آبان ۱۳۹۹ به طول انجامید. هر کرت شامل چهار ردیف، فاصله بین کرتها ۰/۵ متر، فاصله بین بلوک‌ها ۱/۵ متر، فاصله بین ردیف‌های کاشت ۵۰ سانتی‌متر، فاصله دو بوته روی ردیف ۱۰ سانتی‌متر و عمق کاشت ۱ تا ۱/۵ سانتی‌متر بود.

بذر گیاه از گونه محلی جیرفت در استان کرمان تهیه شد. جهت رسیدن به تراکم مطلوب، پس از رشد تقریبی پنج سانتی‌متری گیاهان، عملیات تنک انجام گرفت. در طول اجرای طرح در سه نوبت به‌صورت دستی علف‌های هرز وجین شدند که عمده علف‌های هرز مزرعه اویار سلام و سَس بودند. اولین آبیاری بلافاصله بعد از کاشت و آبیاری‌های بعدی هر ۵ تا ۶ روز تا ۴ ماه به‌صورت غرقابی و یکسان برای کرت‌های هر تیمار تنش انجام شد. کود اوره مورد نیاز همراه با آبیاری در ابتدای مرحله ساقه رفتن در تاریخ ۱۳۹۹/۳/۲ به مقدار ۷۵ کیلوگرم در هکتار داده شد. تیمارهای آبیاری چهار ماه پس از تاریخ کاشت از تاریخ ۱۳۹۹/۶/۵ به‌صورت دورهای آبیاری ۷، ۹ و ۱۱ روز شروع گردید.

محلول‌پاشی اسید هیومیک پس از ۴ ماه از تاریخ کاشت در مرحله گل‌دهی به‌صورت هر ۱۵ روز در ۴ مرحله از تاریخ ۱۳۹۹/۶/۶ تا تاریخ ۱۳۹۹/۷/۲۰ انجام گردید. محلول‌پاشی در ساعات پایانی روز و هنگام غروب آفتاب با سم‌پاش پشتی تلمبه‌ای و با فشار یکسان روی بوته‌ها انجام شد. اسپری کردن تا زمان جاری شدن قطرات محلول از روی بوته‌ها ادامه یافت. محلول اسید هیومیک با نام تجاری وینا هیومیک در این پژوهش دارای خصوصیات جدول ۲ می‌باشد.

جدول ۲- عناصر موجود در مایع اسید هیومیک

Table 2- Elements in humic acid liquid

| Gravity | $P_2O_5$ (%) | پروتئین<br>Protein (%) | ترکیبات آلی<br>Organic compounds (%) | گلوکز<br>Glucose (%) | OC (%) | N (%) | آمینو اسید<br>Amino acid (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| $\frac{1}{34}$ | 0.137 | 0.3 | 40 | 6.2 | 23 | 1.7 | 40 |
| Cu (PPM) | | Zn (PPM) | Mn (PPM) | Fe (PPM) | Mg (%) | Ca (%) | $K_2O$ (%) |
| 12 | | 50 | 46 | 598 | 0.1 | 0.8 | 15.67 |

نمونه‌برداری برای تعیین مقدار محتوی ایندیگو، کلروفیل و درصد عناصر در تاریخ ۲۰ آبان ۱۳۹۹ انجام گرفت.

جهت محاسبه عملکرد برگ با حذف اثر حاشیه، محصول در هفته آخر آبان ۱۳۹۹ برداشت شد و به مدت ۲۳ روز در انبار در دمای اتاق نگهداری شد. سپس برگ‌های خشک جدا شده و وزن برگ‌ها در هر کرت به‌دست آمده و عملکرد آن بر حسب تن در هکتار محاسبه گردید.

## عناصر معدنی

نمونه از اندام‌های هوایی ۳ بوته تصادفی در تاریخ ۲۰ آبان ۱۳۹۹ از هر کرت با رعایت اثر حاشیه تهیه و در آون در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت خشک شده و از روش ویلسون برای تهیه خاکستر و به‌دست آوردن عصاره جهت اندازه‌گیری غلظت عناصر آهن، روی، فسفر و پتاسیم استفاده گردید (Wilson,1983).

## رنگیزه‌های فتوسنتزی

مقدار کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتنوئید توسط روابط (۱) تا (۳) محاسبه شدند (Arnon, 1967):

$$\text{Chlorophyll } a = (۱۱/۷۵ \times A۶۶۴ - ۲/۳۵۰ \times A۶۴۵) \quad (۱)$$

$$\text{Chlorophyll } b = (۱۸/۶۱ \times A۶۴۵ - ۳/۹۶۰ \times A۶۶۴) \quad (۲)$$

$$\text{Carotenoides} = ۱۰۰۰(A۴۷۰) - ۲/۲۷۰\ (\text{mg chl. a}) - \frac{۸۱/۴(\text{mg chl. b})}{۲۲۷} \quad (۳)$$

## دیگر خصوصیات فیزیولوژیک

برای اندازه‌گیری آنزیم گایاکول پراکسیداز به روش فیلدینگ و هال (Fielding & Hall, 1978)، محاسبه آسکوربات پراکسیداز به روش یوشیمورا ( Yashimura, Yabute, Ishikawa, &

(Shigeoka, 2000)، آنزیم کاتالاز به روش بیرز و سیزِر (Beers & Sizer, 1952)، میزان پرولین در برگ با استفاده از روش بِیتس (Bates, Waldern, & Teare, 1973)، اندازه‌گیری شد. همچنین محتوی ایندیگو بر اساس روش ارایه‌شده توسط استوکر و همکاران (Stoker, Cooke, & Hill, 1998) و سالس و همکاران (Sales *et al*., 2006) اندازه‌گیری شد.

## تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه واریانس و مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار MSTAT-C و ترسیم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel انجام گرفت. مقایسه میانگین‌ها با روش حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) انجام شد.

## نتایج و بحث

### کلروفیل a و b

نتایج تجزیه واریانس نشان داد اثر سطوح مختلف آبیاری بر کلروفیل a در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بوده و اثر محلول‌پاشی اسید هیومیک بر کلروفیل a و کلروفیل b در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۳). نتایج نشان داد که هرچه فواصل آبیاری بیشتر شود از میزان کلروفیل a وسمه کاسته می‌شود (جدول ۴). کلروفیل a در دور آبیاری ۹ و ۱۱ روز به‌ترتیب حدود ۴ درصد (۰/۵۵۵۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و ۲۵ درصد (۰/۴۳۴۸ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) نسبت به دور آبیاری ۷ روز (۰/۵۸۰۴ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) کاهش داشت. همچنین با افزایش غلظت اسید هیومیک بر مقدار کلروفیل a و b (جدول ۵) افزوده شد به‌طوری‌که کمترین میزان کلروفیل a (۰/۳۹۵۴ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و b (۰/۲۰۹۸ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در تیمار عدم محلول‌پاشی اسید هیومیک و بیشترین میزان کلروفیل a (۰/۶۷۴۱ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و b (۰/۳۷۴۰ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در تیمار محلول‌پاشی ۵۰ لیتر در هکتار مشاهده شد. مطالعات متعدد نشان می‌دهد تغذیه نیتروژن نقش مهمی در تنظیم سنتز رنگدانه‌های فتوسنتزی در برگ‌های گیاه دارد و سطح عرضه نیتروژن همبستگی مثبت و معنی‌داری با محتوای کلروفیل محصولات دارد (Zhang, Yu, Li, Wang, & Diao, 2013).

**جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس صفات کلروفیل a و b، کاروتنوئید، پرولین، آسکوربات پراکسیداز، گایاکول پراکسیداز و کاتالاز وسمه تحت تأثیر سطوح مختلف آبیاری و محلول‌پاشی اسید هیومیک**

**Table 3- The results of variance analysis of chlorophyll a and b, carotenoid, proline, ascorbate peroxidase, guaiacol peroxidase and catalase traits in *Indigofera tinctoria* under the influence of different levels of irrigation and humic acid foliar application**

| منابع تغییر S.O.V | درجه آزادی d.f | کلروفیل a Chlorophyll a | کلروفیل b Chlorophyll b | کاروتنوئید Carotenoid | پرولین Proline | آسکوربات پراکسیداز Ascorbate peroxidase | گایاکول پراکسیداز Guaiacol peroxidase | کاتالاز Catalase |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| تکرار rep. | 2 | 0.006 ns | 0.002 ns | 0ns | 0.004 ns | 0.010 ns | 0.012 ns | 3.267 ns |
| آبیاری Irrigation | 2 | 0.091 ** | 0.014 ns | 0 ns | 0.068 ns | 0.009 ns | 0.422 ns | 32.929 * |
| خطای اصلی Main error | 4 | 0.014 | 0.005 | 0 | 0.001 | 0.003 | 0.125 | 1.870 |
| اسید هیومیک HA | 4 | 0.091 ** | 0.0380 ** | 0 ** | 0.007** | 0.011 ** | 0.108 ** | 13.831 * |
| آبیاری × اسید هیومیک Irrigation × HA | 8 | 0.000 ns | 0.001 ns | 0 * | 0.003 * | 0.005 * | 0.078 ** | 20.761 ** |
| خطای فرعی Secondary error | 24 | 0.003 | 0.001 | 0 | 0.001 | 0.001 | 0.017 | 4.913 |
| ضریب تغییرات C.V. (%) | | 10.1 | 12.2 | 13.5 | 14.0 | 6.0 | 7.8 | 13.9 |

ns: غیر معنی‌دار، *: سطح احتمال ۵ درصد و **: سطح احتمال ۱ درصد.

ns: non-significant, *: 5% probability level and **: 1% probability level.

جدول ٤- اثر سطوح مختلف آبیاری بر کلروفیل a وسمه

**Table 4- The effect of different levels of irrigation on the chlorophyll a of *Indigofera tinctoria***

| دور آبیاری<br>Irrigation interval<br>(day) | کلروفیلa<br>Chlorophyll a<br>(mg g$^{-1}$) |
|---|---|
| 7 | 0.5804 |
| 9 | 0.5555 |
| 11 | 0.4348 |
| LSD (5%) | 0.1200 |

جدول ٥- اثر محلول‌پاشی اسید هیومیک بر کلروفیل a، کلروفیل b وسمه

**Table 5- The effect of humic acid foliar application on chlorophyll a, chlorophyll b in *Indigofera tinctoria***

| محلول‌پاشی<br>Foliar application<br>(L ha$^{-1}$) | کلروفیلa<br>Chlorophyll a<br>(mg g$^{-1}$) | کلروفیلb<br>Chlorophyll b<br>(mg g$^{-1}$) |
|---|---|---|
| control | 0.3954 | 0.2098 |
| 20 | 0.4457 | 0.2574 |
| 30 | 0.5199 | 0.2984 |
| 40 | 0.5828 | 0.3391 |
| 50 | 0.6741 | 0.3740 |
| LSD (5%) | 0.05329 | 0.03077 |

جدول ٦- اثر متقابل آبیاری در محلول‌پاشی اسید هیومیک بر کاروتنوئید، پرولین، آسکوربات پراکسیداز، گایاکول پراکسیداز، کاتالاز گیاه وسمه

**Table 6- The interaction effect of irrigation and humic acid foliar application on carotenoid, proline, ascorbate peroxidase, guaiacol peroxidase, catalase of *Indigofera tinctoria* plant**

| محلول‌پاشی<br>Foliar application<br>(L ha$^{-1}$) | | کاروتنوئید<br>Carotenoid<br>(mg g$^{-1}$) | پرولین<br>Proline<br>(mg g$^{-1}$) | آسکوربات پراکسیداز<br>Ascorbate peroxidase<br>(mg g$^{-1}$) | گایاکول پراکسیداز<br>Guaiacol peroxidase<br>(mg g$^{-1}$) | کاتالاز<br>Catalase<br>(mg g$^{-1}$) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| دور آبیاری ۷ روز<br>7–day irrigation interval | Control | 0.04107 | 0.148 | 0.6304 | 1.433 | 12.7 |
| | 20 | 0.027 | 0.1802 | 0.6109 | 1.467 | 23.13 |
| | 30 | 0.0337 | 0.1921 | 0.6069 | 1.5 | 14.9 |
| | 40 | 0.03038 | 0.1848 | 0.6191 | 1.5 | 16.33 |
| | 50 | 0.0406 | 0.1353 | 0.6618 | 1.567 | 15.13 |
| دور آبیاری ۹ روز<br>9–day irrigation interval | Control | 0.03073 | 0.2816 | 0.7111 | 1.9 | 18.63 |
| | 20 | 0.0322 | 0.2578 | 0.6456 | 1.8 | 16.47 |
| | 30 | 0.03997 | 0.2433 | 0.6233 | 1.733 | 17.87 |
| | 40 | 0.0518 | 0.2473 | 0.6134 | 1.7 | 17.9 |
| | 50 | 0.04337 | 0.2133 | 0.6076 | 1.633 | 16.1 |
| دور آبیاری ۱۱ روز<br>11–day irrigation interval | Control | 0.03287 | 0.3791 | 0.7786 | 2.2 | 22.7 |
| | 20 | 0.0385 | 0.3385 | 0.6957 | 1.9 | 16.23 |
| | 30 | 0.03963 | 0.2851 | 0.667 | 1.833 | 15.03 |
| | 40 | 0.03877 | 0.2611 | 0.6254 | 1.6 | 13.67 |
| | 50 | 0.04197 | 0.1462 | 0.6018 | 1.5 | 13 |
| LSD (5%) | | 0.01079 | 0.05329 | 0.05329 | 0.2197 | 3.735 |

بنابراین، هنگامی که محصول فاقد نیتروژن باشد، محتوای کلروفیل آن کاهش می‌یابد، کارایی فتوسنتزی آن ضعیف می‌شود، سنتز کربوهیدرات‌ها مسدود می‌شود و عملکرد محصول کاهش می‌یابد. افزایش جذب عناصر غذایی توسط گیاه می‌تواند منجر به افزایش کلروفیل گردد (Gu *et al.*, 2016). به نظر می‌رسد دورهای آبیاری تأثیر به‌سزایی در جذب نیتروژن داشته و لذا تنش خشکی در کاهش کلروفیل تأثیرگذار خواهد بود. در گزارشی بالاترین مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی گیاه لوبیای سیاه در تیمار آبیاری کامل به‌دست آمد به گونه‌ای که با اعمال تنش آبی از مقدار آن کاسته است (Keshtgar Khajedad, Sirousmehr, Khammari, & Dahmardeh, 2023). در غلظت‌های زیاد از اسید هیومیک، میزان جذب عناصر مغذی از جمله نیتروژن افزایش یافته و به دنبال آن میزان کلروفیل و فتوسنتز گیاه رو به افزایش می‌گذارد و مقدار کلروفیل b با غلظت زیاد اسید هیومیک امکان‌پذیر شده است. در یک تحقیق روی گیاه لوبیای سیاه با افزایش محلول‌پاشی اسید هیومیک مقدار کلروفیل‌ها افزایش داشت (Keshtgar khajedad *et al.*, 2023). در آزمایشی دیگر افزایش دور آبیاری و کاهش مقدار اسید هیومیک سبب کاهش رنگیزه‌های فتوسنتزی مانند کلروفیل a در گل جعفری گونه آفریقایی شد به‌طوری‌که بیشترین مقدار کلروفیل a در تیمار ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر اسید هیومیک تحت تنش خشکی ۵ روز مشاهده گردید (Dalvand, Solgi, & Khaleghi, 2018).

### کاروتنوئید

اثر محلول‌پاشی اسید هیومیک و اثر متقابل آبیاری در محلول‌پاشی اسید هیومیک بر میزان کاروتنوئید به‌ترتیب در سطح احتمال ۱ درصد و ۵ درصد معنی‌دار بود (جدول ۳). از مقایسه میانگین‌ها می‌توان نتیجه گرفت در هر سطح از آبیاری با افزایش

محلول‌پاشی بر مقدار کاروتنوئید افزوده شده است به گونه‌ای که بیشترین مقدار کاروتنوئید (۰/۰۵۱۸ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) با دور آبیاری ۹ روز در شرایط محلول‌پاشی ۴۰ لیتر در هکتار و کمترین مقدار کاروتنوئید (۰/۰۲۷۰ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) با دور آبیاری ۷ روز در شرایط محلول‌پاشی ۲۰ لیتر در هکتار به‌دست آمد (جدول ۶). عملکرد کاروتنوئید را می‌توان بیشتر به محافظت از فتوسنتز یا سطوح کلروفیل در طول تأثیر نور یا اشعه ماوراء بنفش نسبت داد (Sandmann, 2019). در تحقیقی کاهش رطوبت خاک باعث افزایش کاروتنوئید در گیاه نخود شد (Ghorbani, Galeshi, Soitani, & Zeynali, 2011). افزایش کاروتنوئد و کلروفیل ممکن است درنتیجه تحریک فعالیت برخی از آنزیم‌های خاص باشد که نقش مهمی در سنتز دارند (Elfeky, Mohammed, Khater, Osman, & Elsherbini, 2013). اسید هیومیک باعث تحریک رنگدانه‌های فتوسنتزی می‌شود که ممکن است به دلیل کاهش مقدار pH و افزایش فعالیت موجودات خاک باشد که مواد مغذی بیشتری از خاک مانند آهن آزاد می‌کنند (Latif & Mohamed, 2016). لذا افزایش مقدار اسید هیومیک محتوای کلروفیل کل و محتوای کاروتنوئید نیز افزایش می‌یابد (Ali *et al.*, 2021). کاربرد اسید هیومیک می‌تواند فعالیت فتوسنتز مانند کلروفیل را افزایش داده و با افزایش آنزیم روبیسکو، تحمل را در شرایط تنش افزایش دهد (Latif & Mohamed, 2016). در گزارشی کاربرد زیاد اسید هیومیک با اعمال آبیاری ۱۵ روز بر روی گل جعفری، میزان کاروتنوئید را نسبت به شاهد حفظ کرده است (Dalvand *et al.*, 2018).

**پرولین**

اثر سطوح آبیاری و محلول‌پاشی اسید هیومیک و اثر متقابل آن‌ها بر میزان پرولین معنی‌دار بود (جدول ۳). نتایج نشان داد در هر سطح از آبیاری با افزایش محلول‌پاشی اسید هیومیک مقدار پرولین کاهش یافته و برای هر سطح از محلول‌پاشی با افزایش دور آبیاری مقدار پرولین افزایش یافت (جدول ۶). افزایش پرولین آزاد باعث کاهش پتانسیل اسمزی درون سلولی و حفظ محتوای آب درون سلولی می‌شود (Yang *et al.*, 2021). طی مطالعه‌ای بر روی گیاه گلرنگ مشخص گردید اعمال تنش خشکی، فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدان پرولین افزایش می‌یابد (De Araujo Silva, Willadino, dos Santos, Oliveira, & Camara, 2016). در تحقیقی دیگر میزان پرولین لوبیای سیاه با اعمال تنش آبی افزایش داشت (Keshtgar khajedad *et al.*, 2023). پرولین و کلروفیل هر دو از یک پیش ماده مشترک به نام گلومات سنتز می‌شوند، بنابراین کاهش سنتز پرولین نتیجه افزایش سنتز کلروفیل در شرایط تنش خشکی بوده است (Paleg & Spinall, 1981). کاهش تولید پرولین به سبب استفاده اسید هیومیک در گیاهان به‌خاطر بهبود بخشیدن گیاه به تنش‌های محیطی مانند تنش خشکی می‌باشد (Ferrara, Pacifico, Simeone, & Ferrara, 2007).

**آسکوربات پراکسیداز**

اثر محلول‌پاشی اسید هیومیک در سطح احتمال یک درصد و اثر متقابل سطوح مختلف آبیاری در محلول‌پاشی اسید هیومیک در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود (جدول ۳). در دور آبیاری ۹ روز و ۱۱ روز، مقدار آسکوربات پراکسیداز با افزایش محلول‌پاشی اسید هیومیک کاهش یافته است به‌طوری‌که در دور آبیاری ۹ روز و ۱۱ روز بیشترین مقدار این صفت (به‌ترتیب ۰/۷۱۱۱ میلی‌گرم بر گرم وزن تر و ۰/۷۷۸۶ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در تیمار عدم محلول‌پاشی اسید هیومیک و کمترین مقدار این صفت (به‌ترتیب ۰/۶۰۷۶ میلی‌گرم بر گرم وزن تر و ۰/۶۰۱۸ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در تیمار محلول‌پاشی ۵۰ لیتر در هکتار به‌دست آمد (جدول ۶).

کاربرد عناصر پرمصرف مانند نیتروژن سمیت گونه‌های فعال اکسیژن از راه افزایش غلظت آنتی‌اکسیدان‌هایی مانند پراکسیداز کاهش می‌دهند (Aslani, Barzegar, & Nikbakht, 2019). این آنتی‌اکسیدان‌ها گونه‌های فعال اکسیژن را بازیابی نموده و واکنش‌های اکسیداسیون نوری را کاهش می‌دهند و درنتیجه موجب حفظ تکامل غشای کلروپلاست می‌شوند (Waraich, Ahmad, & Ashraf, 2011). در تحقیقی با مطالعه اثر تنش خشکی بر گیاه برنج تحت تیمار اسید هیومیک گزارش نمودند که اسیدهای هیومیک در برگ و ریشه القاشده منجر به کاهش محتوای پراکسیداسیون هیدروژن، حفظ نفوذپذیری غشا و افزایش میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز شده است (Garcia *et al.*, 2012). در آزمایشی افزایش دور آبیاری، موجب افزایش فعالیت آسکوربات پراکسیداز در دور آبیاری ۱۵ روز در ارقام ماری و میشن زیتون گردید (Akbari, Jalili, & Farokhzad, 2015). کاربرد اسید هیومیک در آزاله همیشه سبز[1] سبب افزایش فعالیت آنزیم آسکوربات شده است (Elmongy, Zhou, Cao, Liu, & Xia, 2018).

**گایاکول پراکسیداز**

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر محلول‌پاشی اسید هیومیک و اثر متقابل آبیاری در محلول‌پاشی اسید هیومیک بر میزان گایاکول پراکسیداز معنی‌دار بود (جدول ۳). فعالیت بالای آنزیم‌های پراکسیداز باعث کاهش آسیب‌های سلولی در شرایط تنش خشکی شده و می‌توانند به‌عنوان یک مکانیسم حفاظتی موثر در برابر تنش خشکی در نظر گرفته شود (Rostami & Rahemi, 2013). نتایج نشان داد در دور آبیاری ۷ روز با افزایش محلول‌پاشی مقدار گایاکول پراکسیداز افزایش داشته و در مقابل در دورهای آبیاری ۹ و ۱۱ روز با افزایش محلول‌پاشی اسید هیومیک مقدار این صفت کاهش داشته است

---

1- Evergreen azalea

(جدول ۶). در آزمایشی افزایش دور آبیاری، موجب افـزایش فعالیـت گایاکول پراکسـیداز در دور آبیـاری ۱۵ روز در ارقـام مـاری و میشـن زیتون گردید (Akbari *et al*., 2015).

**کاتالاز**

تأثیر سطوح آبیاری و محلول‌پاشی اسید هیومیـک و اثـر متقابـل آبیاری در محلول‌پاشی اسید هیومیـک بـر ایـن صـفت معنـی‌دار بـود (جدول ۳). مشخص شد که در دور آبیـاری ۷ روز بـا افـزایش کـاربرد اسید هیومیک مقدار کاتالاز افزایش می‌یابـد، در دور آبیـاری ۹ روز بـا وجود کاهش کاتالاز در غلظت‌های محلول‌پاشـی تفـاوت معنـی‌داری بین سه سطح محلول‌پاشی شاهد، ۳۰ و ۴۰ لیتـر در هکتـار مشـاهده نشد و همچنین در دور آبیاری ۱۱ روز با افزایش محلول‌پاشـی مقـدار کاتالاز پراکسیداز کاهش یافت (جدول ۶). شدت تنش‌های اکسـیداتیو و میزان فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها بیان‌کننده میزان مقاومت یا حساسیت ارقام به تنش خشکی است. افزایش کاتالاز در شرایط خشکی می‌تواند به‌عنوان یک نقش فتوتراپی در مکانیسم‌های فتوسنتزی عمل کند که باعـث آسـیب بـه کلروپلاسـت در طـی دوره تـنش مـی‌گـردد (Ghanaatiyan & Sadeghi, 2017). بهبـود شـرایط بـرای رشـد گیاهان در اثر کاربرد کودهای آلی به سبب کاهش رادیکال‌های مضـر و کاهش آنزیم‌های ضداکسیژن است (Yadollahi, Asgharipour, & Kheiri, & Ghaderi, 2015). بنابراین کاربرد سید هیومیـک باعـث افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز می‌شـود (Elmongy *et al*., 2018). در تحقیقی افزایش مقدار اسید هیومیک سبب افزایش قابل‌ملاحظه مقدار کاتالاز در توت‌فرنگی شـد (Khodamoradi, Amiri, & Dovlati, 2018).

**آهن (Fe)**

اثرات سطوح آبیاری و محلول‌پاشی اسید هیومیـک و اثـر متقابـل آن‌ها بر مقدار آهن در سطح احتمال ۱ درصد در گیاه وسـمه معنـی‌دار بود (جدول ۷). به‌طور کلی در دور آبیاری ۷ روز و ۹ روز کاربرد غلظت زیاد از اسید هیومیک، مقدار آهن را افزایش داد به‌طوری‌که بیشـترین مقدار آهن (۲/۴۷۳ ppm) در دور آبیاری ۹ روز با شرایط محلول‌پاشی ۵۰ لیتر در هکتار اسید هیومیک و کمترین مقدار آهن (۱/۸۵۱ ppm) در دور آبیاری ۷ روز با شرایط محلول‌پاشـی ۲۰ لیتـر در هکتـار اسـید هیومیک به‌دست آمد ولی در دور آبیاری ۱۱ روز کاربرد غلظت کـم از اسید هیومیک مقـدار آهـن را افـزایش داد (جـدول ۱۰). در تحقیقـی کاربرد اسید هیومیک در برگ پرتقال موجب افزایش مقدار آهن شـده است (El-Hamied, 2014).

**روی (Zn)**

اثر سطوح آبیاری و اثر محلول‌پاشی اسید هیومیک بر عنصر روی به‌ترتیب در سطح احتمال ۵ درصد و ۱ درصد در گیاه وسمه معنـی‌دار بود (جدول ۷). به نظر می‌رسد افزایش مقدار روی در وسمه درنتیجـه کاهش دور آبیاری (جدول ۸) و افزایش غلظت اسید هیومیک (جـدول ۹) بوده باشد.

**جدول ۷- نتایج تجزیه واریانس صفات آهن، روی پتاسیم و فسفر و محتوی ایندیگو تحت تأثیر سطوح مختلف آبیاری و محلول‌پاشی اسید هیومیک**

**Table 7- The results of variance analysis of iron, zinc, potassium and phosphorus traits and indigo content under the influence of different levels of irrigation and humic acid foliar application**

| منابع تغییر S.O.V | درجه آزادی d.f | آهن Fe | روی Zn | پتاسیم K | فسفر P | محتوی ایندیگو Indigo content | عملکرد برگ Leaf yield |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| تکرار Rep. | 2 | 0.005 ns | 161.859 ns | 136.44 ns | 0.047 ns | 128.623 ns | 113451.699 ns |
| آبیاری Irrigation (I) | 3 | 0.368 ** | 638.391 * | 1640.665 ns | 0.239 ns | 22.796 ns | 1130380.693 * |
| خطای اصلی Main error | 4 | 0.009 | 36.231 | 912.616 | 0.052 | 19.052 | 135047.276 |
| اسید هیومیک HA | 4 | 0.234 ** | 2815.403 ** | 7077.236 ** | 0.236 ** | 95.093 ** | 735825.470 ** |
| آبیاری × اسید هیومیک I×HA | 8 | 0.139 ** | 17.711 ns | 723.100 ns | 0.092 ** | 19.290 * | 140504.794 ns |
| خطای فرعی Secondary error | 24 | 0.011 | 44.627 | 466.798 | 0.026 | 6.118 | 86471.457 |
| ضریب تغییرات C.V. (%) | | 4.9 | 6. 7 | 15.8 | 9.2 | 7.6 | 8.5 |

ns: غیر معنی‌دار، *: سطح احتمال ۵ درصد و **: سطح احتمال ۱ درصد.

ns: non-significant, *: 5% probability level and **: 1% probability level.

از مقایسه مقدار میانگین‌ها بـر صـفت روی تحت تـأثیر سـطوح مختلف آبیاری بیشترین مقـدار روی (۱۰۴/۲ ppm) در دور آبیـاری ۷ روز و کمتـرین مقـدار روی (۹۲/۶۹ ppm) در دور آبیـاری ۱۱ روز به‌دست آمد (جدول ۸). در مورد تأثیر محلول‌پاشی اسید هیومیـک بـر

روی، بیشترین مقدار روی (۱۱۹/۲ PPM) در تیمار محلول‌پاشی ۵۰ لیتر در هکتار اسید هیومیک و کمترین مقدار روی (۷۲/۹۶ ppm) در تیمار عدم محلول‌پاشی اسید هیومیک به‌دست آمد (جدول ۹). در آزمایشی استفاده از محلول‌پاشی اسید هیومیک باعث افزایش معنی‌دار روی در برگ انار شد (Davarpanah, Tehranifar, Davarynejad, & Khorasani, 2018; Abadía). همچنین کاربرد اسید هیومیک موجب افزایش غلظت عنصر روی در برگ میوه‌های پرتقال شد (El-Hamied, 2014).

جدول ۸- اثر سطوح مختلف آبیاری بر روی (Zn) و عملکرد برگ در گیاه وسمه

**Table 8- The effect of different levels of irrigation on zinc (Zn) and leaf yield in *Indigofera tinctoria***

| دور آبیاری Irrigation interval (day) | روی – Zn (PPM) | عملکرد برگ Leaf yield (kg ha$^{-1}$) |
|---|---|---|
| 7 | 104.2 | 3663 |
| 9 | 103.8 | 3476 |
| 11 | 92.69 | 3122 |
| LSD (5%) | 6.102 | 372.6 |

جدول ۹- اثر محلول‌پاشی اسید هیومیک بر روی (Zn)، پتاسیم (K) و عملکرد برگ در گیاه وسمه

**Table 9- The effect of humic acid foliar application on zinc (Zn), potassium (K) and leaf yield in *Indigofera tinctoria***

| محلول‌پاشی Foliar application (L ha$^{-1}$) | روی (Zn) (PPM) | پتاسیم (K) (PPM) | عملکرد برگ Leaf yield (kg ha$^{-1}$) |
|---|---|---|---|
| شاهد- Control | 72.96 | 98.22 | 3182 |
| 20 | 93.91 | 123 | 3125 |
| 30 | 106.3 | 136.4 | 3374 |
| 40 | 108.7 | 157.1 | 3633 |
| 50 | 119.2 | 169.3 | 3788 |
| LSD (5%) | 6.500 | 21.02 | 284.4 |

جدول ۱۰- اثر متقابل آبیاری در محلول‌پاشی اسید هیومیک بر آهن (Fe)، فسفر (P) و محتوی ایندیگو در گیاه وسمه

**Table 10- The interaction effect of irrigation and humic acid foliar application on iron (Fe), phosphorus (P) and indigo content of *Indigofera tinctoria***

| | محلول‌پاشی Foliar application (L ha$^{-1}$) | آهن (Fe) (PPM) | فسفر (P) (PPM) | محتوی ایندیگو Indigo content (mg g$^{-1}$) |
|---|---|---|---|---|
| دور آبیاری ۷ روز 7-day irrigation interval | Control | 2.058 | 1.148 | 28.23 |
| | 20 | 1.851 | 1.532 | 30.12 |
| | 30 | 1.946 | 1.259 | 34.27 |
| | 40 | 2.296 | 1.808 | 35.58 |
| | 50 | 2.452 | 1.806 | 39.32 |
| دور آبیاری ۹ روز 9-day irrigation interval | Control | 2.192 | 1.929 | 30.74 |
| | 20 | 2.461 | 1.71 | 31.29 |
| | 30 | 2.201 | 1.502 | 31.41 |
| | 40 | 2.368 | 1.836 | 31.75 |
| | 50 | 2.473 | 1.99 | 37.12 |
| دور آبیاری ۱۱ روز 11-day irrigation interval | Control | 2.258 | 1.994 | 24.49 |
| | 20 | 2.307 | 1.48 | 30.72 |
| | 30 | 1.963 | 2.022 | 31.77 |
| | 40 | 2.036 | 1.924 | 36.37 |
| | 50 | 2.185 | 1.915 | 31.9 |
| LSD (5%) | | 0.1767 | 0.2717 | 4.168 |

## پتاسیم (K)

نتایج تجزیه واریانس نشان داد اثر محلول‌پاشی اسید هیومیک بر میزان پتاسیم در گیاه وسمه در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۷). افزایش محلول‌پاشی اسید هیومیک باعث افزایش میزان پتاسیم در گیاه وسمه گردید به‌طوری‌که بیشترین مقدار پتاسیم (۱۶۹/۳ ppm) در تیمار محلول‌پاشی ۵۰ لیتر در هکتار اسید هیومیک و کمترین مقدار آن (۹۸/۲۲ ppm) در تیمار عدم محلول‌پاشی اسید هیومیک یافت گردید (جدول ۹). کاربرد اسید هیومیک در ذرت افزایش میزان درصد پتاسیم را به سبب افزایش استفاده اسید هیومیک نشان داده است (Daur & Bakhashwain, 2013). در گزارشی

دیگر محلول‌پاشی اسید هیومیک سبب افزایش معنی‌دار غلظت پتاسیم در برگ انار شد (Davarpanah *et al*., 201).

**فسفر (P)**

اثـر محلول‌پاشـی اسـید هیومیـک و اثـر متقابـل آبیـاری در محلول‌پاشی اسید هیومیک بر عنصر فسفر در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۷). از مقایسه میانگین‌ها بیشترین مقدار عنصر فسفر (۲/۰۲۲ ppm) از دور آبیاری ۱۱ روز در شرایط محلول‌پاشی ۳۰ لیتر در هکتار به‌دست آمد و کمترین مقدار عنصر فسفر (۱/۲۵۹ ppm) از دور آبیاری ۷ روز در شرایط محلول‌پاشی ۳۰ لیتر در هکتار اسید هیومیک به‌دست آمد (جدول ۱۰). کاربرد برگی اسید هیومیک اثر قابل‌توجهی بر روی عملکرد، طول و اندازه‌ی خوشه و میزان پتاسیم، آهن، فسفر برگ‌های انگور داشته است (Asgharzade & Babaeian, 2012). محلول‌پاشی اسید هیومیک روی زردآلو رقم کانینو باعث افزایش شاخص‌های بیوشیمیایی و جذب مواد غذایی شده است (Shaaban, Morsey, & Mahmoud, 2015). در گزارشی برای افزایش راندمان بهتر جذب آب گیاه ذرت و بهبود تغذیه معدنی، کاربرد مواد هیومیک باعث افزایش میزان فسفر موجود گردید (Daur & Bakhashwain, 2013).

**محتوی ایندیگو**

اثر سطوح مختلف محلول‌پاشی اسید هیومیک و اثر متقابل آبیاری در محلول‌پاشی اسید هیومیک بـر مـاده ایندیگو بـه‌ترتیب در سطح احتمال ۱ درصد و ۵ درصد معنـی‌دار بـود (جـدول ۷). از مقایسه میانگین‌ها می‌توان نتیجه گرفت در هر سطح آبیاری با افزایش کاربرد اسید هیومیـک محتـوی اینـدیگو افـزایش یافتـه اسـت به‌طوری‌که بیشترین محتوی ایندیگو (۳۹/۳۲ میلی‌گرم بر گـرم) در دور آبیـاری ۷ روز در شـرایط محلول‌پاشـی ۵۰ لیتـر در هکتـار و کمتـرین محتـوی ایندیگو (۲۴/۴۹ میلی‌گرم بر گـرم) در دور آبیـاری ۱۱ روز در شـرایط عدم محلول‌پاشی اسـید هیومیـک به‌دسـت آمـد (جـدول ۱۰). تـنش خشکی نتایجی از قبیل بسته شدن روزنه‌ها، کاهش در سرعت انتقـال مواد غذایی در گیاهـان، کـاهش پتانسـیل آب در بافت‌هـای گیـاهی، کاهش فتوسنتز، بازدارندگی از رشد، افزایش در تجمع آبسیزیک اسید، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، پـرولین، تشـکیل رادیکال‌هـای آزاد و تـنش اکسیداتیو را به همـراه دارد، لـذا زمانی‌کـه گیاهـان در شـرایط تـنش محیطی قرار می‌گیرند، از طریق تولید متابولیت‌هـای ثانویـه مختلـف خودشـان را از ایـن شـرایط حفـظ می‌کننـد (Sayadi, Ahmadi, Bhour, & Hosseni, 2014). در یک بررسی مقدار سـطوح آبیـاری به‌طور قابل‌ملاحظه‌ای تفاوتی بر محتوی ایندیگو نداشته است گرچـه که تغییر سطح آبیاری از ۶۰ درصـد بـه ۱۰۰ درصـد ظرفیـت زراعـی باعث کاهش ۳ تا ۹ درصدی محتوی ایندیگو بـه‌ترتیب در چین‌هـای اول و دوم وسـمه شـد (Modafe Behzadi *et al*., 2018). نتـایج دیگر محققان تأثیر معنی‌داری برای محتوی ایندیگو در کـاربرد انـواع کودها را نشان نمی‌دهد. به‌عنوان مثال در گزارشی کاربرد انواع منـابع تغذیه‌ای شامل کود شیمیایی، دامی، ورمی کمپوست، میکوریزا و شاهد به‌طور قابل‌توجهی در محتوی ایندیگو تغییری نداشته با این‌که کاربرد کود دامی و ورمی کمپوست بیشترین درصـد اینـدیگو را باعـث شـده است (Modafe Behzadi *et al*., 2018).

**عملکرد برگ گیاه وسمه**

اثر سطوح مختلف آبیاری و سـطوح مختلـف محلول‌پاشـی اسـید هیومیک بر عملکرد بـرگ وسـمه معنـی‌دار بـود (جـدول ۷). مقایسـه میانگین‌ها نشان می‌دهد کاهش دور آبیاری موجب افـزایش عملکـرد برگ گیاه وسمه شده است به‌طوری‌که بیشترین مقدار عملکـرد بـرگ وسمه (۳۶۶۳ $kg\ ha^{-1}$) در دور آبیاری ۷ روز و کمترین مقدار عملکرد بـرگ وسـمه (۳۱۲۲ $kg\ ha^{-1}$) در دور آبیـاری ۱۱ روز به‌دست آمـد (جدول ۸). رشد گیاهان به‌واسطه یک سری فرآیندهای فیزیولـوژیکی و بیوشـیمیایی نظیـر فتوسـنتز، تـنفس، انتقـال مـواد، جـذب یون‌هـا، متابولیسم فرآورده‌هـا و مـواد غـذایی کـه مسـئول وزن خشـک گیـاه هستند، تحقق می‌یابد (Kafi *et al*., 2010) و ایـن فرآینـدها بـه‌طور مستقیم تحت تأثیر مقدار و پایداری آب قابل‌دسترس می‌باشند کـه بـا افزایش دور آبیاری، این فرآیندها دچار اختلال شده و گیاه نمی‌تواند به حداکثر پتانسـیل مـاده خشـک دسـت یابـد (Emam & Zavareh, 2006). دریک بررسی عملکرد خشک برگ وسـمه بـا کـاهش مقـدار آبیاری از ۱۰۰ درصد به ۶۰ درصد ظرفیت زراعی، در چین اول باعـث ۲۷ درصد افت و در چین دوم ۳۷ درصد افت عملکـرد بـرگ مشـاهده شده است (Modafe Behzadi *et al*., 2018). در بررسی اثر محلول اسـید هیومیـک بـر عملکـرد بـرگ وسـمه معلـوم گردیـد افـزایش محلول‌پاشی اسید هیومیک موجب افزایش عملکرد برگ گیـاه وسـمه شده است (جدول ۹). در کنار افزایش میـزان سـطح بـرگ و افـزایش مقدار کلروفیل، عملکرد گیاهان از طریق اثرات هورمـونی و تـأثیر بـر متابولیسم سلول‌های آلـی از جملـه عملکـرد بـرگ افـزایش می‌یابـد (Nardi, Panuccio, Abenavoli, & Muscolo, 1994).

## نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از بررسی تـأثیر کـاهش سـطوح مختلـف آبیـاری و افزایش محلول‌پاشی اسید هیومیک بـر وسـمه نشـان داد کـه مقـدار کلروفیل a و b روی افزایش داشته است. همچنـین افـزایش اسـید هیومیک باعث افزایش پتاسیم وسـمه شـد. در هـر سـطح از آبیـاری مشخص شد با افزایش محلول‌پاشی اسید هیومیک مقدار کاروتنوئد و محتوی ایندیگو نیز افزایش داشت. برخی از خصوصیات فیزیولوژیـک دیگر وسمه مانند پرولین، آسـکوربات پراکسـیداز، کاتـالاز و گایـاکول پراکسیداز در هر سطح آبیاری با افزایش محلول‌پاشی اسـید هیومیـک

کاهش را نشان داد. در پژوهش‌های آینده می‌توان مقایسه کاربرد خاکی و محلول‌پاشی اسید هیومیک را در نظر داشت. به‌طورکلی جهت تولید برگ وسمه دور آبیاری ۹ روز و محلول‌پاشی ۴۰ لیتر در هکتار اسید هیومیک و برای به‌دست آوردن محتوی ایندیگوی بیشتر دور آبیاری ۱۱ روز و محلول‌پاشی ۴۰ لیتر در هکتار اسید هیومیک مناسب به نظر می‌رسد.

## سپاسگزاری

بخشی از هزینه اجرای این آزمایش از محل اعتبار پژوهانه IR-UOZ-GR-2904 دانشگاه زابل تأمین شده است.

## References


1. Acevedo-Rodríguez, P. (1996). *Flora of St. John, US Virgin Islands* (Vol. 78, pp. iii+-581). Bronx, New York: New York Botanical Garden.
2. Akbari, V., Jalili, M. R., & Farokhzad, A. R. (2015). Effect of cycocel on antioxidative activity and malondialdehyde content of, mary and mission olive (*Olea europaea* L.) cultivars under drought stress. *Plant Production Technology*, *15*(2), 121-135. (in Persian with English abstract).
3. Ali, A. Y. A., Ibrahim, M. E. H., Zhou, G., Elsiddig, A. M. I., Jiao, X., Zhu, G., Meng, T., Y., Ahmed, I., & Gabralla, E. (2021). Humic acid and jasmonic acid improves the growth and antioxidant defense system in salt stressed-forage sorghum plants. 07 May 2021, PREPRINT (Version 1) available at *Research Square*. https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-490134/v1
4. Asgharzade, A., & Babaeian, M. (2012). Investigating the effects of humic acid and acetic acid foliar application on yield and leaves nutrient content of grape (*Vitis vinifera*). *African Journal of Microbiology Research*, *6*(31), 6049-6054. https://doi.org/10.5897/AJMR12.425
5. Aslani, S., Barzegar, T., & Nikbakht, J. (2019). Effect of humic acid on physiological and biochemical indices and yield of tomato under deficit irrigation. *Journal of Crops Improvement*, *21*(2), 221-232. (in Persian with English abstract). https://doi.org/10.22059/jci.2019.272278.2137
6. Ayeen, A., & Shabani, M. (2005). Indigo agronomy (Neel) *Indigofera tinctoria* L. under hot and dry regions. *Zeytoon*, *186*, 62-64. (in Persian).
7. Balfour-Paul, J. (1998). *Indigo*. British Museum Press, London.
8. Bates, S., Waldern, R. P., & Teare, E. D. (1973). Rapide determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soli*, *39*, 205-207. https://doi.org/10.1007/BF00018060
9. Battaglia, M. L., Ketterings, Q. M., Godwin, G., & Czymmek, K. J. (2021). Conservation tillage is compatible with manure injection in corn silage system. *Agronomy Journal*, *113*(3), 2900-2912. https://doi.org/10.1002/agj2.20604
10. Beers, G. R., & Sizer, I. W. (1952). A spectrophotometric Method fOr measuring the breakdoN of hydrogen peroxide by catalase. *BioLogycal CHeMistry*, *195*(1), 133140.
11. Bhargava, S., & Sawant, K. (2013). Drought stress adaptation: metabolic adjustment and regulation of gene expression. *Plant Breeding*, *132*(1), 21-32. https://doi.org/10.1111/pbr.12004
12. Dalvand, M., Solgi, M., & Khaleghi, A. (2018). Effects of foliar application of humic acid and drought stress on growth and physiological characteristics of marigold (*Taget erecta*). *Journal of Soil and Plant Interactions-Isfahan University of Technology*, *9*(2), 67-80. (in Persian with English abstract). https://doi.org/10.29252/ejgcst.9.2.67
13. Daur, I., & Bakhashwain, A. A. (2013). Effect of humic acid on growth and quality of maize fodder production. *Pakistan Journal of Botany*, *45*(S1), 21-25.
14. Davarpanah, S., Tehranifar, A., Davarynejad, G. H., Abadía, J., & Khorasani, R. (2018). Effect of humic acid on some physical and chemical characteristics of Pomegranate (*Punica granatum* cv. Ardestani). *Plant Production Technology*, *18*(1), 69-81. (in Persian with English abstract). https://doi.org/10.22084/PPT.2018.9285.1525
15. de Araujo Silva, M. M., Willadino, L., dos Santos, D. Y. A. C., Oliveira, A. F. M., & Camara, T. R. (2016). Response of *Ricinus communis* L. to in vitro water stress induced by polyethylene glycol. *Plant Growth Regulation*, *78*, 195-204. https://doi.org/10.1007/s10725-015-0085-3
16. Elfeky, S. A., Mohammed, M. A., Khater, M. S., Osman, Y. A., & Elsherbini, E. (2013). Effect of magnetite nano-fertilizer on growth and yield of *Ocimum basilicum* L. *International Journal of Indigenous Medicinal Plants*, *46*(3), 1286-11293.
17. El-Hamied, S. A. A. (2014). Response of Valencia orange to some natural and synthetic soil conditioners under north sinai (Egypt) conditions. *International Journal of Advanced Research*, *2*(11), 802-810.
18. Elmongy, M. S., Zhou, H., Cao, Y., Liu, B., & Xia, Y. (2018). The effect of humic acid on endogenous hormone levels and antioxidant enzyme activity during in vitro rooting of evergreen azalea. *Scientia Horticulturae*, *227*, 234-243. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.09.027
19. Emam, Y., & Zavaerh, M. (2006). *Drought Tolerance in Higher Plants*. Publishing Center of Tehran University, 186 p. (in Persian).
20. Ferrara, G., Pacifico, A., Simeone, P., & Ferrara, E. (2007, June). *Preliminary study on the effects of foliar applications of humic acids on 'Italia'table grape*. Proc. of the XXXth World Congress of Vine and Wine (Vol. 165). Budapest, Hungary.
21. Fielding, J. L., & Hall, J. (1978). A biochemical and cytoChemical Study of Peroxidase ctivity in root pea. *Journal of ExperimenTal Botany*, *29*(4), 969-981. https://doi.org/10.1093/jxb/29.4.969

22. Gao, X., & Schrire, B. D. (2017). *Indigofera* L. *Flora of China*. eFloras: Missouri Botanical Garden, St. Louis, MO & Harvard University Herbaria, Cambridge, MA.
23. García, A. C., Santos, L. A., Izquierdo, F. G., Sperandio, M. V. L., Castro, R. N., & Berbara, R. L. L. (2012). Vermicompost humic acids as an ecological pathway to protect rice plant against oxidative stress. *Ecological Engineering*, *47*, 203-208. https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2012.06.011
24. Ghanaatiyan, K., & Sadeghi, H. (2017). Differential responses of chicory ecotypes exposed to drought stress in relation to enzymatic and non-enzymatic antioxidants as well as ABA concentration. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, *92*(4), 404-410. https://doi.org/10.1080/14620316.2017.1286235
25. Ghorbani, T., Galeshi, S., Soitani, A., & Zeynali, E. (2011, may). *The effect of drought stress on growth parameters, chlorophyll and carotenoid content in the vegetative stage of chickpea plants (Cicer arietinum*). 1st Special Conference about Apportunity Methods for Sustainable Agriculture. (pp. 138-143). Payame Noor University of Khuzestan, Ahvaz, Iran. (in Persian).
26. Gilbert, K. G., Maule, H. G., Rudolph, B., Lewis, M., Vandenburg, H., Tozzi, S., & Cooke, D. (2004). Quantitative analysis of indigo and indigo precursors in leaves of Isatis spp. and Polygonum tinctorium. *Biotechnology Progress*, *20*(4), 1289-1292. https://doi.org/10.1021/bp0300624
27. Gomiero, T., Pimentel, D., & Paoletti, M. G. (2011). Environmental impact of different agricultural management practices: Conventional vs. organic agriculture. *Critical Reviews in Plant Sciences*, *30*, 95-124. https://doi.org/10.1080/07352689.2011.554355
28. Gu, J., Zhou, Z., Li, Z., Kong, X., Wang, Z., & Yang, J. (2016). Effects of the mutant with low chlorophyll content on photosynthesis and yield in rice. *Acta Agronomica Sinica*, *42*(4), 551-560. https://doi.org/10.3724/SP.J.1006.2016.00551
29. Kafi, M., Borzooei, A., Salehi, A., Kamandi, A., Massomi, A., & Nabati, C. J. (2010). *The Physiology of Environmental Stress in Plants*. Published by University of Mashhad, Mashhad, Iran. p. 502. (in Persian).
30. Kavimani, S., Jaykar, B., De Clercq, E., Pannecouque, C., Witvrouw, M., & De Clercq, E. (2000). Studies on anti-HIV activity of *Indigofera tinctoria*. *Hamdard Medicus*, *43*(1), 5-7.
31. Keshtgar Khajedad, M., Sirousmehr, A. R., Khammari, I., & Dahmardeh, K. (2023). The Effect of Humic Acid Foliar Application on Morphophysiological Characteristics and Yield of Black Bean Plant Under Different Irrigation Regimes. *Journal of Crops Improvement*, *25*(1), 127-142. (in Persian with English abstract). https://doi.org/10.22059/jci.2022.322275.2538
32. Khodamoradi, P., Amiri, J., & Dovlati, B. (2018). Influence of humic acid on some antioxidant enzymes activity and compatible metabolites in strawberry (Fragaria× ananassa Duch. cv. Sabrina) under salinity stress. *Research in Pomology*, *3*(1), 23-35. (in Persian).
33. Kumar, P., Lai, L., Battaglia, M. L., Kumar, S., Owens, V., Fike, J., Galbraith, J., Hong, C. O., Faris, R., Crawford, R., Crawford, J., Hansen, J., Mayton, H., & Viands, D. (2019). Impacts of nitrogen fertilization rate and landscape position on select soil properties in switchgrass field at four sites in the USA. *Catena*, *180*, 183-193. https://doi.org/10.1016/j.catena.2019.04.028
34. Latif, H. H., & Mohamed, H. I. (2016). Exogenous applications of moringa leaf extract effect on retrotransposon, ultrastructural and biochemical contents of common bean plants under environmental stresses. *South African Journal of Botany*, *106*, 221-231. https://doi.org/10.1016/j.sajb.2016.07.010
35. Lemmens, R. H. M. J., & Wulijarni-Soetjipto, N. (1991). *Plant Resources of South-East Asia*. No. 3. Dye and tannin-producing plants, 195 p.
36. Liu, M., Wang, C., Wang, F., & Xie, Y. (2019). Maize (*Zea mays*) growth and nutrient uptake following integrated improvement of vermicompost and humic acid fertilizer on coastal saline soil. *Applied Soil Ecology*, *142*, 147-154. https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2019.04.024
37. Mi Na, M. N., Cai Fu, C. F., Zhang YuShu, Z. Y., Ji RuiPeng, J. R., Zhang ShuJie, Z. S., & Wang Yang, W. Y. (2018). Differential responses of maize yield to drought at vegetative and reproductive stages. *Plant, Soil & Environment*, *64*, 260-267. https://doi.org/10.17221/141/2018-PSE
38. Modafe Behzadi, N., Rezvani Moghaddam, P., & Jahan, M. (2018). The effect of organic and chemical fertilizers on qualitative and quantitative yield of indigo (*Indigofera tinctoria* L.) at irrigation levels under Bam climatic conditions. *Iranian Journal of Field Crops Research*, *16*(1), 49-65. (in Persian). https://doi.org/10.22067/gsc.v16i1.54983
39. Muscolo, A., Sidari, M., & Nardi, S., (2013). Humic substance: relationship between structure and activity. Deeper information suggests univocal findings. *Journal of Geochemical Exploration*, *129*, 57-63. https://doi.org/10.1016/j.gexplo.2012.10.012
40. Muthulingam, M., Mohandoss, P., Indra, N., & Sethupathy, S. (2010). Antihepatotoxic efficacy of *Indigofera tinctoria* (Linn.) on paracetamol induced liver damage in rats. *International Journal of Pharmacy & Biomedical Research*, *1*(1), 13-18.
41. Nadkarni, K. M. (1998). *Indian Medicinal Plants and Drugs-with their Medicinal Properties and Uses*. Asiatic Publishing House, New Delhi. 450p.
42. Nardi, S., Panuccio, M. R., Abenavoli, M. R., & Muscolo, A. (1994). Auxin-like effect of humic substances extracted from faeces of Allolobophora caliginosa and A. rosea. *Soil Biology and Biochemistry*, *26*(10), 1341-1346. https://doi.org/10.1016/0038-0717(94)90215-1

43. O'Connell, E. (2017). Towards adaptation of water resource systems to climatic and socio-economic change. *Water Resources Management*, *31*, 2965-2984. https://doi.org/10.1007/s11269-017-1734-2
44. Paleg, L. G., & Spinall, D. (1981). *The Physiology and Biochemistry of Drought Resistance in Plant*. New York, Academic Press, 240 p.
45. Rajpar, I., Bhatti, M. B., Zia-ul-Hassan, A. N., & Tunio, S. D. (2011). Humic acid improves growth, yield and oil content of Brassica compestris L. *Pakistan Journal of Agriculture, Agricultural Engineering and Veterinary Sciences*, *27*(2), 125-133.
46. Rostami, A. A., & Rahemi, M. (2013). Screening drought tolerance in caprifig varieties in accordance to responses of antioxidant enzymes. *World Applied Sciences Journal*, *21*(8), 1213-1219. https://doi.org/10.5829/idosi.wasj.2013.21.8.91
47. Sales, E., Kanhonou, R., Baixauli, C., Giner, A., Cooke, D., Gilbert, K., Arrilaga, I., Segura, J., & Ros, R. (2006). Sowing date, transplanting, plant density and nitrogen fertilization affect indigo production from Isatis species in a Mediterranean region of Spain. *Industrial Crops and Products*, *23*(1), 29-39. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2005.03.002
48. Sandmann, G. (2019). Antioxidant protection from UV-and light-stress related to carotenoid structures. *Antioxidants*, *8*(7), 219. https://doi.org/10.3390/antiox8070219
49. Sarhadi, H., Afsharmanesh, G. R., & Mokhtari, Z. (2014). Effect of drought stress on some morphological traits and seed yield of indigo (*Indigofera tinctoria* L.) under different levels of nitrogen. *Trends in Life Science*, *3*(4), 74-78.
50. Savithramma, N. C. H., & Rao, S. K. N. (2007). Treatment in asthma of dry powder of Indigofera tinctoria Linn. *Journal of Ethnopharmacology*, *113*, 54-61. https://doi.org/10.1016/j.jep.2007.04.004
51. Sayadi, A., Ahmadi, J., Bhour, A., & Hosseni, S. M. (2014). Investigation of the effect of drought and salinity stresses on phenolic compounds of *Thymus vulgaris* L. *Eco-phytochemical Journal of Medicinal Plants*, *2*(4), 50-61. (in Persian).
52. Shaaban, F. K., Morsey, M. M., & Mahmoud, T. Sh. M. (2015). Influence of spraying yeast extract and humic acid on fruit maturity stage and storablitity of canino apricot fruits. *International Journal of ChemTec Research*, *8*(6), 530-543.
53. Shah, Z. H., Rehman, H. M., Akhtar, T., Alsamadany, H., Hamooh, B. T., Mujtaba, T., Daur, I., Al Zahrani, Y., Alzahrani, H. A., Ali, S., & Yang, S. H. (2018). Humic substances: Determining potential molecular regulatory processes in plants. *Frontiers in Plant Science*, *9*, 263. https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00263
54. Stoker, K.G., Cooke, D.T., & Hill, D. J. (1998). An improved method for the large-scale processing of woad (*Isatis tinctoria*) for possible commercial production of woad indigo. *Journal of Agricultural Engineering Research*, *71*(4), 315-320. https://doi.org/10.1006/jaer.1998.0329
55. Tyagi, P. K., Rai, V. K., Pahria, A. K., Sambath Kumar, S., Singh, Y., Sharma, M., & Goyal, M. (2010). Preliminary phytochemical screening and evaluation of anti-inflammatory activity of ethanolic extract of leaves of Indigofera tinctoria Linn. *Journal of Current Pharmaceutical Research*, *3*(1), 47-50.
56. Waraich, E. A., Ahmad, R., & Ashraf, M. Y. (2011). Role of mineral nutrition in alleviation of drought stress in plants. *Australian Journal of Crop Science*, *5*(6), 764-777.
57. Wilson, J. R. (1983). Effects of water stress on in vitro dry matter digestibility and chemical composition of herbage of tropical pasture species. *Australian Journal of Agricultural Research*, *34*(4), 377-390.
58. Yadollahi, P., Asgharipour, M. R., Kheiri, N., & Ghaderi, A. (2015). Effects of drought stress and different types of organic fertilizers on the yield and yield components of safflower (*Carthamus tinctorius* L.). *Journal of Oil Plants Production*, *1*(2), 27-40. (in Persian with English abstract).
59. Yang, D., Ni, R., Yang, S., Pu, Y., Qian, M., Yang, Y., & Yang, Y. (2021). Functional characterization of the Stipa purpurea P5CS gene under drought stress conditions. *International Journal of Molecular Sciences*, *22*(17), 9599. https://doi.org/10.3390/ijms22179599
60. Yashimura, K., Yabute, Y., Ishikawa, T., & Shigeoka, S. (2000). Expression of spinach ascorbate peroxidase isoenzymes in response to oxidative stresses. *Plant Physiology*, *123*, 223-233.
61. Zhang, X., Lei, L., Lai, J., Zhao, H., & Song, W., (2018). Effects of drought stress and water recovery on physiological responses and gene expression in maize seedlings. *BMC Plant Biology*, *18*(1), 1-16. https://doi.org/10.1186/s12870-018-1281-x
62. Zhang, Y., Yu, S., Li, C. F., Wang, Y. B., & Diao, Z. F. (2013). Response characteristics of plant growth and leaf photochemical activity of sugar beet seedlings to different nitrogen application leaves. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, *27*, 1391-1400. https://doi.org/10.11869/hnxb.2013.09.1391